

## 경골어류 잉어과 쉬리 (*Coreoleuciscus splendidus*)의 정자형성과정

김동희, 이규재, 김 석<sup>1</sup>, 등영건\*

연세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실, 기초의학연구소, <sup>1</sup>중앙연구소

## The Spermatogenesis of *Coreoleuciscus splendidus*, Cyprinidae, Teleostei

Dong-Heui Kim, Kyu-Jae Lee, Seok Kim<sup>1</sup> and Yung-Chien Teng\*

Department of Environmental Medical Biology, Institute of Basic Medical Science, and  
<sup>1</sup>Central Research Laboratory, Wonju College of Medicine, Yonsei University,  
Wonju, Gangwon 220-701, Korea

(Received July 9, 2009; Accepted September 23, 2009)

### ABSTRACT

The ultrastructure of spermatogenesis and sperm in *Coreoleuciscus splendidus*, belonging to Gobioninae, Cyprinidae was investigated by light and electron microscopes.

The testis was located between intestine and air bladder. The size of testis was major axis 1.8 cm, minor axis 3 mm. The testis of *C. splendidus* contained numerous testicular cysts, and spermatogenesis was non-synchronized in these testicular cysts. In May, the upper area of testis contained with other germ cells and sperm but the lower area of testis contained with matured sperm only. In case of spermatogonia, the nucleus was comparatively large spherical, and mitochondria showed a marked development. The size of primary spermatocyte was smaller than that of spermatogonia, and that of secondary spermatocyte was smaller than that of primary spermatocyte. The chromatin of spermatocyte was highly condensed according to their development. The nucleus with electron-dense was round shape. In spermiogenesis, flagella started to be formed and chromatin was more condensed. The mitochondria were rearranged in a middle piece. The head of matured sperm was a spherical shape and had not acrosome. The microtubules of flagella were arranged 9+2 structure. Also, the tail of sperm had not lateral fins and 7 outer coarse fibers.

**Keywords** : Spermatogenesis, *Coreoleuciscus splendidus*, Cyprinidae, Teleost

### 서 론

일반적으로 경골어류의 정자형성과정은 정소 내 정소낭 (testicular cyst)에서 이루어지며 (Almeida et al., 2008; Chung, 2008), 정소낭 내의 생식세포는 *Oryzias latipes*, *Liza aurata*,

*Acanthopagrus schlegeli*, *Thalassoma duperrey* 및 *Anguilla japonica*처럼 동시에 분화하는 종과 (Miura et al., 1991; Gwo & Gwo, 1993), *Salmo gairdneri*와 *Mustelus palumbes*처럼 동시에 분화하지 않는 종들이 있다 (Billard, 1983; Rossouw & Vanessen, 1993). 경골어류의 정소 안의 구조는 내강이 없는 관상형 (tubular type)과 내강이 있는 소엽형 (lobular type)으

본 연구는 2008년 연세대학교 원주의대 학술연구비에 의해 이루어졌음 (YUWCM-2008-24).

\* Correspondence should be addressed to Dr. Yung Chien Teng, Department of Environmental Medical Biology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162 Ilsan-dong, Wonju, Gangwon-do 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0351, Fax: (033) 732-4446, E-mail: youngkun@yonsei.ac.kr

로 나뉘며 대부분의 경골어류는 내강이 있는 소엽형에 속한다(Glier, 1976; Chung, 2008). 대부분의 경골어류는 정소 안에서 성숙한 정자가 형성된 후 바로 체외로 방출되지만 큰가시고기처럼 활성화를 위한 부정소를 가지고 있는 경우도 있다(Deung, 1999).

경골어류의 정자는 두부에 침체가 존재하지 않아(Gwo & Gwo, 1993; Kim et al., 2003) 난막을 뚫고 들어갈 수 없기 때문에 정자는 난막의 동물극 쪽에 위치한 난문(micropyle)을 통하여 난자 내로 진입하여 수정하는 것으로 알려졌다(Brusle, 1981; Kim et al., 1999). 어류에서 정자의 두부형태는 리본형(Zirkin, 1975), 초승달형(Todd, 1976), 구형(Grier, 1976), 탄환형(Afzelelius, 1978) 및 신장형(Brusle, 1981) 등으로 다양하다.

지금까지 정자형성과정은 몇몇 연구자들에 의해 난생어류(Medina et al., 2003; Fishelson et al., 2007)와 난태생 어류에서 연구되어 왔으며(Kim et al., 2003) 국내 어종의 경우 채집의 어려움, 생태계 파괴에 의한 서식지 축소, 채집직후 생존가능성 희박, 실험실 내 사육 및 암수구별의 어려움 등으로 연구가 활발하게 이루어지고 있지 않은 실정이다.

특히 모래무지아과(Gobioninae)에 속하는 쉬리의 경우 남부의 한강, 금강, 만경강, 동진강, 울진 왕피천, 삼척 오십천, 섬진강 및 낙동강 수계 등 국내에만 서식하는 한국 고유종으로 보존 가치가 높은 종이기 때문에 정자형성과정에 대한 연구의 필요성이 절실하며, 서식처의 수질이 1급 수질에서만 서식하고 있어 환경오염에 따라서 개체 수가 급격히 감소하고 있어 보호대상어종으로 지정되어 있다.

따라서 한국고유종이면서 수가 급격히 감소하고 있는 쉬리의 정자형성과정을 광학현미경과 전자현미경을 통하여 규명함으로써 미세구조적 분류형질을 파악하여 분류체계를 확립하고, 생식과정확인, 초기발생과정을 연구하는 데 필요한 기초자료를 마련하고자 본 연구를 수행하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

2008년 3월부터 2009년 5월 사이에 강원도 횡성군 섬강에서 쉬리(*Coreoleuciscus splendidus*)를 채집하여 실험실 내에서 기초사육을 하였으며 사육중 성숙한 수컷을 선별하여 실험재료로 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 사육방법

pH 6.5±0.5 및 22.0±0.5°C로 조정된 물이 담긴 수조(60×45×45 cm)에서 사육하였으며 기초양어수는 Fritz-guard

(Fritz Co., Ltd., USA)로 상수의 염소를 제거시킨 후 사용하고 스펀지 필터(Brilliant sponge filter™, Tetra Co., Ltd., Germany)를 이용한 생물학적 여과(biological filtration)법으로 물을 정화하였다. 수조 바닥에 쌓인 배설물과 먹고 남은 사료는 2일 간격으로 1/3씩 환수시켜 제거하였다. 하루 10시간씩 낮 환경을 유지시켰고 먹이는 자외선으로 살균시킨 냉동장구벌레와 테트라 비트(Tetra Bits™, Tetra Co., Ltd., Germany)를 오전 8시 30분과 오후 5시에 하루 2번씩 공급하였다. 수류발생은 측면여과기를 이용하였다.

#### 2) 암수분리

채집한 쉬리를 사육하는 동안 뒷지느러미의 기초, 가슴지느러미와 배지느러미에 추성이 나타나고 채색이 선명해진 개체를 수컷으로 판정하여 선별 후 분리하였다.

#### 3) 조직처리

##### (1) 광학현미경 시료

성숙한 쉬리의 수컷을 해부하여 정소의 외부형태를 관찰하고 정소를 적출하여 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)으로 조정된 10% 포르말린으로 4°C에서 24시간 고정한 후 흐르는 물로 12시간 세척하였다. Ethanol 농도 상승 순으로 탈수하고 xylene으로 치환시킨 후 paraffin으로 포매하여 2~3 μm 두께로 절편을 만들어 hematoxylin과 eosin으로 이중 염색하여 광학현미경으로 발생분화시기에 따른 정자형성과정을 관찰하였다.

##### (2) 전자현미경 시료

투과전자현미경 시료는 광학현미경 시료처리법과 동일한 방법으로 정소를 적출한 후 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조성된 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 4시간 동안 전고정한 후 동일 완충용액으로 20분간 2번 세척하였다. 후고정은 1% osmium tetroxide로 90분간 실시하였고, 동일 완충용액으로 20분간 2번 세척한 후 ethanol 농도 상승 순으로 탈수시켜 propylene oxide로 치환하였다. 포매는 Epon 혼합액을 사용하였고, 열중합 후 초박절편기(Reichert Ultracut E, Germany)를 이용하여 60~70 nm 두께로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 후 JEM-1200EX II형(JEOL, Japan) 투과전자현미경으로 정자형성과정을 관찰하였다.

주사전자현미경용 시료의 경우 정자를 관찰하기 위하여 정소를 적출하여 막자사발에 넣어 분쇄한 후 생리식염수와 혼합하여 이 액상에 정자가 있다고 가정하고 전고정액을 부어 고정시켰다. 2,800 rpm에서 2분간 원심분리하여 얻은 정자와 정소낭을 관찰하기 위한 상피를 제거시킨 정소를 통상적인 주사전자현미경의 시료처리법에 따라 고정 및 탈수하여 hexamethyldisilazane으로 치환시킨 후 정자의 경우 4등분한 cover glass에 도말하고 정소의 경우 통채로 대기

중에서 건조한 후 JEM-6300형(JEOL, Japan)과 TM-1000(Hitachi, Japan) 주사전자현미경으로 정자의 두부, 몸통, 꼬리의 일반형태 및 lateral fin의 유무를 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

경골어류, 잉어과, 모래무지아과에 속하는 쉬리의 정자형성과정을 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 관찰한 결과는 다음과 같다.

쉬리의 정소는 어두운 흰색으로 부레와 창자 사이에 한 쌍이 위치하고 있었고 장축 약 1.8 cm, 단축 약 3 mm 정도로 매우 긴 형태였다. 일반적으로 정소는 경골어류의 경우 대부분 흰색인데 비해서 쉬리는 회색감이 도는 어두운 흰색을 띠고 있다는 점이 다른 종과 차이를 나타내며, 쉬리는 체형이 매우 길기 때문에 정소의 형태도 다른 어종보다 훨씬 길게 나타난 것으로 생각된다.

3월에 채집된 쉬리의 정자형성과정을 확인한 결과 정자는 관찰되지 않았고 정소낭 내에서 정세포이전의 분화단계만 확인되었다(Fig. 1). 5월에 채집된 정소에서는 정자가 상당히 많이 관찰되었으며(Fig. 2) 쉬리의 머리쪽 정소에서는 전체적으로 정자형성과정이 일어나고 있었고(Fig. 3) 꼬리쪽에서는 분화중간 단계는 관찰되지 않고 단지 성숙한 정자만 관찰되었다(Fig. 4). 같은 정소 내에서 성숙한 정자가 한쪽에 모여 있는 경우는 특이한 경우로 쉬리만이 가지는 특성이며 쉬리의 번식은 4~5월 사이에 이루어지는 것으로 알려져 있어 5월에 채집된 개체에서 보다 많은 정자가 관찰되었다. 따라서 쉬리의 경우 정자형성과정은 정소낭 내에서 동시에 분화하지 않는 종에 속한다. 정소 안에는 장축 25~70  $\mu\text{m}$  정도인 다수의 타원형의 정소낭들을 가지고 있다는 점에서(Fig. 5) 고등한 포유류의 정자형성과정과 비교해 볼 때 차이를 보인다. 번식시기의 정소낭은 상당히 부푼 형태로 쉽게 터질 수 있도록 끝부분에 작은 구멍들이 나 있는 것을 발견할 수 있었다(Fig. 6). 지금까지 알려진 어류의 정자형성과정에서 정소낭의 외형은 밝혀진 바 없어 중요한 자료로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 정소낭과 정소낭 사이에는 미토콘드리아가 매우 잘 발달되어 있는 라이디히 세포(Leydig cell)들이 관찰되었고(Fig. 7), 라이디히 세포는 형태학적 특징으로 과립을 갖는 핵(vesicular nucleus), 관상 크리스테(tubular cristae)를 갖는 미토콘드리아, 아주 잘 발달된 활면소포체(SER)를 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Chung, 2008).

정자형성과정 초기의 정원세포는 한 개의 소엽 내에 2~3개가 관찰되었고, 전자밀도가 매우 낮고 다수의 미토콘드리아가 세포질에 산재하고 있었다(Fig. 8), 정원세포는 발달함에 따라서 전자밀도가 약간 높아졌고 뚜렷한 인이 관찰되

었으며 핵막 주위에 다수의 미토콘드리아가 배열되어 있었다(Fig. 9). 제1정모세포는 분화함에 따라서 핵질의 전자밀도가 보다 높아졌고 정원세포에 비하여 미토콘드리아가 감소되는 경향을 보였다(Fig. 10). 제2정모세포는 염색질이 응축되어 보다 전자밀도가 높아졌으며 미토콘드리아가 더 적게 관찰되었다(Fig. 11). 초기의 정세포들은 제2정모세포에 비하여 염색질이 매우 균질한 상태로 관찰되었고 미토콘드리아는 핵의 반대쪽에 모여 있었다. 같은 정소낭 안에서 분화시기가 달라 핵의 전자밀도가 차이가 나는 정세포들이 발견된 것으로 보아 쉬리는 정자완성과정이 동시에 일어나지 않는다는 것을 다시 한 번 확인할 수 있었다(Fig. 12). 후기 시기의 정세포는 더욱 핵이 응축되어 검어지고(Fig. 13), 성숙한 정자의 두부에서는 첨체(acrosome)가 발견되지 않았으며, 세포질이 거의 없고 중편부에서 미토콘드리아만이 관찰되었다(Figs. 14, 15). 흰철갑상어(white sturgeon)의 경우처럼 두부에 첨체를 보유하고 있는 종도 있으나(Cherr & Clark, 1984) 대부분의 경골어류는 첨체는 없다. 중편부의 미토콘드리아는 상당히 크고 종단면 상으로 1층, 횡단면 상으로 2~3개가 관찰되었다.

정자가 성숙함에 따라서 세포 내 공간은 점점 넓어지며 세포질이 탈락하는 정자들이 많이 관찰되었다. 정자형성과정 중 초기시기부터 세포질이 서로 세포간교에 의한 생식세포들이 연결되어 있는 것은 생식세포들이 동시에 분화함으로써 다수의 정자를 방출하여 수정율을 높이기 위한 것으로 알려져 있다(Billard, 1983; Gwo & Gwo, 1993). 체내 수정을 하는 *Xiphophorus maculatus*의 경우도 일반 체외수정하는 어류와 유사한 구조를 가지고 있다(Kim et al., 2003). 정자가 내강으로 빠져나간 후 남은 잔사체(residual body)들이 정소낭 여러 부위에서 관찰되었다(Fig. 16). 정자의 편모는 일반적인 경골어류의 편모로 특징적인 것은 관찰되지 않았고(Fig. 17), 편모의 횡단면을 관찰한 결과 미세소관 배열은 역시 일반적인 9+2 구조를 보였다(Fig. 18). 경골어류의 경우 종에 따라서 정자의 이동에 도움을 주는 lateral fin이 정자의 꼬리에 가지고 있는 경우도 있으나(Todd, 1976; Deung et al., 1999) 쉬리의 경우 관찰되지 않았다. 그러나 중편부위 뒷부분의 편모에서 7개의 조대원섬유(outer coarse fiber)가 발견되었고(Fig. 19) 이 조대원섬유는 흔히 발견되지 않기 때문에 연결되는 구간이 매우 짧을 것으로 추측된다. 이 섬유가 분포하는 구간을 확인하기 위해서는 추가적인 연속절편을 이용한 추적실험이 필요할 것으로 생각된다. 성숙한 정자를 주사전자현미경으로 관찰한 결과 머리는 직경 1.5~1.8  $\mu\text{m}$  정도인 구형이었으며 중편은 매우 짧아 거의 구분이 되지 않았고 모양은 구형이었으며 긴 편모를 가지고 있었다(Fig. 20).

이상과 같이 쉬리(*Coreoleuciscus splendidus*)의 정자형성과정은 3월에 이미 시작되지만 성숙한 정자는 형성되지 않

으며, 5월에 가장 활발하다. 정자형성과정은 다른 경골어류의 경우와 매우 유사하나 정소의 머리 쪽에서는 다양한 종류의 생식세포가 관찰되지만 꼬리 쪽의 정소에서는 정자만 관찰되는 특이한 경향을 보였다. 따라서 이런 차이점은 쉬리만이 갖는 종 특이성으로 생각된다. 성숙한 정자의 형태 역시 구형의 머리와 짧은 중편은 다른 어종과 매우 유사하지만 lateral fin이 없고 편모 중 조대원섬유를 포함하고 있다는 점은 다른 종과 구별되는 종 특이성이다.

국내에는 모래무지아과에 속하는 어류는 어름치, 참마자, 누치, 등 34종이 있으며 이들 종에 대한 미세구조적 비교실험이 추가적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Almeida FF, Kristoffersen C, Taranger GL, Schulz RW: Spermatogenesis in Atlantic cod (*Gadus morhua*): a novel model of cystic germ cell development. *Biol Reprod* 78 : 27-34, 2008.
- Billard R: Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*): An ultrastructural study. *Cell Tissue Res* 233 : 265-284, 1983.
- Brusle S: Ultrastructure of spermatogenesis in *Liza aurata* Risso, 1810 (Teleostei, Mugilidae). *Cell Tissue Res* 217 : 415-424, 1981.
- Cherr GN, JR Clark WH: An acrosome reaction in sperm from the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *J Exp Zool* 232 : 129-139, 1984.
- Chung EY: Ultrastructure of germ cells, the Leydig cells, and Sertoli cells during spermatogenesis in *Boleophthalmus pectinirostris* (Teleostei, Perciformes, Gobiidae). *Tissue and Cell* 40 : 195-205, 2008.
- Deung YK, Kim DH, Reu DS: Ultrastructure of gametes in the three-spine stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus*. *Korean J Electron Microscopy* 29 : 177-178, 1999. (Korean)
- Fishelson L, Gon O, Holdengreber H, Delarea Y: Comparative spermatogenesis spermatocytogenesis, and spermatozeugmata formation in males of viviparous species of clinid fishes (Teleostei: Clinidae, Blennioidei). *Anat Rec* 290 : 311-323, 2007.
- Grier HJ: Sperm development in the teleost. *Cell Tissue Res* 168 : 419-431, 1976.
- Gwo JC, Gwo HH: Spermatogenesis in the black porgy *Acanthopagrus schlegeli* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). *Mol Rep Dev* 36 : 75-83, 1993.
- Kim DH, Deung YK, Kim WJ, Reu DS, Kang SJ: Comparative ultrastructures of the fertilized egg envelopes from three-spot gourami, pearl gourami and marble gourami, Belontiidae, Teleost. *Korean J Electron Microscopy* 29 : 343-351, 1999. (Korean)
- Kim DH, Reu DS, Deung YK: An ultrastructural study on the spermatogenesis of *Xiphophorus maculatus*. *Korean J Electron Microscopy* 33 : 267-274, 2003. (Korean)
- Medina A, Megina C, Abascal FJ, Calzada A: The sperm ultrastructure of *Merluccius merluccius* (Teleostei, Gadiformes): phylogenetic considerations. *Acta Zoologica* 84 : 131-137, 2003.
- Miura T, Yamauchi K, Nagahama Y, Takahashi H: Introduction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. *Zool Sci* 8 : 63-73, 1991.
- Rossouw GJ, Vanessen LD: Spermatogenesis in the male whitespotted houndshark, *Mustelus palubes* Smith. *South African J Sci* 89 : 244-246, 1993.
- Todd PR: Ultrastructure of the spermatozoa and spermiogenesis in New Zealand freshwater eels (Anguillidae). *Cell Tissue Res* 171 : 224-232, 1976.

## < 국문초록 >

경골어류 잉어과 모래무지아과에 속하는 쉬리 (*Coreoleuciscus splendidus*)의 정자형성과정 및 정자의 형태를 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 쉬리의 정소는 부레와 창자 사이에 위치하고 있었고 장축 1.8 cm, 단축 3 mm 정도의 크기로 어두운 흰색을 띠고 있었다. 정자형성과정은 정소낭 (testicular cyst)에서 이루어졌으며, 각 정소낭 내에서 다양한 분화시기의 생식세포가 분포하고 있었으나 번식기인 5월에는 정소의 상부는 다양한 분화시기의 생식세포와 정자가 하부에는 성숙한 정자만 관찰되었다. 정원세포는 전자밀도가 매우 낮고 미토콘드리아의 발달이 현저하였다. 제1정모세포는 원형으로 정원세포보다 크기가 작았고 제2정모세포는 제1정모세포보다 더 작아졌고 핵의 전자밀도는 더 높았다. 정세포의 초기발달시기에는 세포의 크기가 정모세포보다 작아졌고 두부의 전자밀도가 높아졌으며 편모가 형성되기 시작하였고 미토콘드리아는 핵 주변에 분포하였다. 정자완성과정 말기에는 핵의 염색질 응축이 뚜렷하였으며 핵은 세포질 한쪽에 치우쳐 있었고, 미토콘드리아는 편모 주변에 집중되었다. 완전히 성숙한 정자의 경우 두부형태는 구형이었고 두부에서 첨체는 관찰되지 않았으며 편모의 미세소관 배열은 9+2 구조를 이루고 있었다. 또한 편모 양쪽으로 lateral fin은 관찰되지 않았으며 7개의 조대원섬유가 발견되었다.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Light micrograph of testis section in *Coreoleuciscus splendidus* corrected in March (Note the spermatogonia and numerous spermatocytes were observed in the testicular cysts.) ( $\times 400$ ).
- Fig. 2.** Light micrograph of testis section in *C. splendidus* corrected in May ( $\times 100$ ).
- Fig. 3.** The upper part of testis in *C. splendidus* corrected in May. There are both matured sperms and other germ cells ( $\times 400$ ).
- Fig. 4.** The lower part of testis in *C. splendidus* corrected in May. Many sperms were in testis only ( $\times 400$ ).
- Fig. 5.** A scanning electron micrograph of testicular cyst (Scale bar= $20\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 6.** Testicular cyst containing matured sperm (Scale bar= $3\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 7.** A transmission electron micrograph of Leydig cell. N, Nucleus; M, Mitochondria (Scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 8.** A transmission electron micrograph of spermatogonia. N, Nucleus; M, Mitochondria (Scale bar= $2\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 9.** An electron micrograph of early spermatogonia (Scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 10.** An electron micrograph of primary spermatocytes (Scale bar= $2\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 11.** An electron micrograph of secondary spermatocytes. N, Nucleus (Scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 12.** An electron micrograph of early spermatids. N, Nucleus (Scale bar= $2\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 13.** An electron micrograph of late spermatids (Scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 14.** An electron micrograph of matured sperm. N, Nucleus; M, Mitochondria (Scale bar= $0.5\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 15.** An electron micrograph of matured sperm. N, Nucleus; M, mitochondria; F, Flagella, Is, Intercellular space (Scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 16.** An electron micrograph of residual body (Scale bar= $1\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 17.** Longitudinal section of sperm tail (Scale bar= $0.2\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 18.** Cross section of the tail of a spermatozoon. Note the 9+2 structure (Scale bar= $0.2\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 19.** Cross section of 7 outer coarse fibers in tail (Scale bar= $0.2\ \mu\text{m}$ ).
- Fig. 20.** A scanning electron micrograph of sperm (Scale bar= $2\ \mu\text{m}$ ).









